Machine Translated by Google

Dr. Jürgen O. Kirchner
Biologi kandidat, MBA

[redacted]

Hr. vicepræsident
Christof Diefenbach

Hessiske Statskontor

for Sundhed og Omsorg
Postboks 2913
65019 Wiesbaden

Hamborg den 29. april 2023

Ansøgning efter § 48 HVwVfG om tilbagekaldelse af producentens autorisation (Fremstillingstilladelse) DE_HE_01_MIA_2022_0087 fra Biontech Manufacturing Marburg GmbH (ORG-100001653 / LOC-100002178) i relation til den farmaceutiske mRNA-aktive ingrediens (API) BNT162b2 (mRNA COVID-19-vaccine BioNTech)

Kære hr. Diefenbach,

Den 10. april 2023 blev en artikel af den amerikanske forsker Kevin McKernan og kolleger offentliggjort, der rapporterede, at mRNA COVID-19
Vacciner fra BioNTech og Moderna er massivt forurenet med DNA, langt over grænsen fastsat af den europæiske tilsynsmyndighed EMA. Det, der er særligt chokerende, er, at komplette, funktionelle bakterieplasmider (cirkulært DNA fra genetisk modificerede bakterier) blev fundet i alle vaccineprøver.

Ud fra den nuværende videnskabelige viden er der generelt en begrundet mistanke om, at DNA-kontaminering af et injektionspræparat kan have skadelige virkninger, der går langt ud over forsvarlige niveauer, også når det pågældende lægemiddel anvendes efter hensigten.
I et videnskabeligt perspektiv må denne konstatering derfor betegnes som yderst tvivlsom i lægemiddellovens § 5's forstand. Detaljer kan findes i det vedhæftede dokument "Evaluering af publikationen McKernan et al 2023: Specification of DNA impurities in mRNA vaccines".

Din myndigheds ansvar for nødvendige inspektioner og konsekvenserne deraf udspringer af loven om oprettelse af Hessian State Office for Health and Care af 9. december 2022 (LAGesPflErG HE) og fremstillingstilladelsen DE_HE_01_MIA_ 2022_0087 fra Biontech Manufacturing (Biontech Manufacturing) ORG -100001653 / LOC-100002178) relateret til produktionen af BNT162b2 (mRNA COVID-19 vaccine BioNTech)

i Marburg (Hessen).

Machine Translated by Google

Ovennævnte fremstillingstilladelse for humanmedicinske lægemidler kunne kun gives, hvis det blev sikret, at kravene i direktiv 2001/83/EF blev overholdt, ligesom de tilsvarende bestemmelser i lægemiddelloven (AMG). Artikel 40 i direktiv 2001/83/EF fastslår, at fremstilling af lægemidler kræver officiel tilladelse. Artikel 41 specificerer betingelserne for tildelingen.

Dette omfatter især, at ansøger har passende og tilstrækkelige kontrolmuligheder.

I denne henseende forpligter artikel 20 den ansvarlige myndighed - i den her omhandlede sag, afdeling II 23.2 i Darmstadt Regional Council og siden 1. januar 2023, Hessian State Office for Health and Care - til at kontrollere, at kravene til udstedelse fremstillingstilladelsen er opfyldt. Omfanget af disse inspektioner er fastsat i artikel 8, stk. 3, litra h).

påpege, at der udtrykkeligt nævnes "biologiske undersøgelser" og dermed testningen for biologisk forurening, som omfatter DNA-forurening.

Direktiv 2001/83/EF er suppleret med forordning (EU) nr. 1252/2014.
I artikel 12, stk. 2, kræver dette, at der udføres laboratoriekontrol for at sikre, at specifikationerne i artikel 12, stk. mellemstoffer. Artikel 3 i forordning (EU) nr. 1252/2014 kræver også, at producenten etablerer et effektivt kvalitetsstyringssystem.

Dette system skal ifølge forordningen især sikre, at de aktive stoffer opfylder specifikationerne i artikel 12, stk. 1, hvad angår deres kvalitet og renhed.

Min vedhæftede analyse baseret på resultaterne af McKernan og kolleger
Du kan nu se, at der i prøver af vacciner med den aktive ingrediens BNT162b2 blev påvist DNA-kontamination flere størrelsesordener over grænsen for DNA-kontamination. Du kan også se på min analyse, hvorfor der kan postuleres en yderst alvorlig trussel mod folkesundheden for alle vacciner med det aktive stof BNT162b2.

Selvom det ikke vides, i hvilket produktionsanlæg prøverne, som McKernan og kolleger har undersøgt, er produceret, tyder omstændighederne på, at den fundne DNA-forurening ikke er et resultat af tilfældigheder, men derimod at det må være et spørgsmål om systemiske utilstrækkeligheder i fremstillingsprocessen. Alene det faktum, at både mRNA-covid-19-vaccinen fra BioNTech og den fra Moderna har problemet med kontaminering med DNA i plasmidform, tyder på, at mRNA-aktive ingredienser anvender lineariseret plasmid-DNA som udgangsmateriale til deres produktion generelt ikke kan fremstilles med den nødvendige renhed med hensyn til DNA-kontaminering.

Hvis der imidlertid foreligger et sådant generelt forureningsproblem, må det antages, at meddelelsen af en fremstillingstilladelse til fremstilling af det aktive stof BNT162b2 i Marburg i henhold til § 48 HVwVfG var ulovlig og derfor skal trækkes tilbage.

Machine Translated by Google

Det skal navnlig også afgøres, om den ovenfor angivne fremstillingstilladelse er opnået ved svigagtigt bedrageri eller ved manglende omhu fra de myndigheder, der har udstedt den. Dette gør det igen vigtigt, at alle partier af mRNA COVID-19-vaccinen fremstilles i Marburg

BioNTech vil blive genundersøgt for enhver form for kontaminering, især med hensyn til DNA generelt og plasmider i særdeleshed.

Da der er en overhængende fare for folkesundheden, skal din myndighed handle med det samme. Det er nødvendigt at udelukke de ansatte i din myndighed og Paul Ehrlich Instituttet, som oprindeligt og i bredeste forstand var involveret i at afklare eksistensen af alle forudsætninger for tildelingen af den relevante fremstillingslicens fra de nu nødvendige undersøgelser på grund af bias. Under denne forudsætning, især:

de uanmeldte inspektioner, der kræves i henhold til § 64, stk. 3, punktum 4 baseret på mine oplysninger om alvorlige fejl ved det aktive stof BNT162b2 og
udføre den officielle undersøgelse af lægemiddelprøver, der kræves i henhold til § 64, stk. 3, 3. punktum.

For fuldstændighedens skyld skal spørgsmålet om en mulig systematisk fejl i undersøgelserne af McKernan og kolleger naturligvis også stilles, selvom de offentliggjorte data højst sandsynligt udelukker dette. Jeg kan dog allerede nu sige, at andre videnskabsmænd (som ikke ønsker at blive navngivet) nu har udført mindre detaljerede, men meningsfulde tilsvarende undersøgelser af mRNA-vacciner markedsført i Tyskland, som også har bekræftet massiv DNA-kontamination.

Men uanset hvad der mangler at blive fastslået, er der overhængende fare, og derfor er det yderst vigtigt, at fremstillingstilladelsen DE_HE_01_MIA_2022_0087 i forhold til den farmaceutiske mRNA-aktive ingrediens (API) BNT162b2 (mRNA COVID 19-vaccine) fra Biontech Manufacturing Marburg-130000ORG161000 GmbH / 0ORG-1501 GmbH 8) trækkes tilbage for at forhindre yderligere alvorlig skade på offentligheden. Jeg anmoder hermed om dette.

Til sidst vil jeg pege på princippet om forvaltningens lovlighed i grundlovens paragraf 20, som blot lyder: "Den udøvende magt og den dømmende magt er bundet af lov og retfærdighed".

Det kan være usædvanligt, at en ansøgning som denne ender med en sådan note. Men blot det faktum, at det kræver en videnskabsmand i USA at afdække den massive tvivlsomhed ved et stof, som den tyske stat selv har bragt på markedet, er i stand til at underminere tilliden til det, grundlovens fædre kaldte "den udøvende magt". at ryste.

Derfor appellerer jeg til jer om at tage øjeblikkelige og konsekvente foranstaltninger mod dette - som befolkningen i Tyskland har ret til. Og med det mener jeg også din familie, dine venner, dine naboer.

Med venlig hilsen

En paperback vedhæftet fil

Machine Translated by Google

Evaluering af publikationen McKernan et al 2023:

Specificering af DNA-urenheder i mRNA-vacciner

Udgivelsesdatoer

Titel: Sekventering af bivalente Moderna- og Pfizer-mRNA-vacciner afslører nanogram til mikrogram mængder af ekspressionsvektor dsDNA pr. dosis

Dato: 10. april 2023

Forfattere: McKernan, Kevin; Helbert, Yvonne; Kane, Liam T. og McLaughlin, Stephen
Medicinal Genomics, 100 Cummings Center, Suite 406-L, Beverly Mass, 01915, USA

Kilde: OSF Preprints, doi:10.31219/osf.io/b9t7m

Indholdsfortegnelse

I. Resumé 2

II. Indledning 3

III. Metodisk tilgang af McKernan og kolleger og evaluering af de respektive resultater 5

IV. Vurdering af risikoprofilen for DNA-kontaminering BioNTechs mRNA COVID-19-vaccine 10

V. Liste over kilder 14

Vedhæftet fil

Publikation McKernan et al vom 10. april 2023:
Sekventering af bivalente Moderna og Pfizer mRNA-vacciner afslører nanogram til mikrogram mængder af ekspressionsvektor dsDNA pr. dosis 16

Machine Translated by Google

I. Resumé

Nærværende evaluering vedrører de eksperimentelle resultater af en analyse af BioNTechs mRNA COVID 19-vaccine for DNA-kontamination offentliggjort af McKernan og kolleger i april 2023(1). De sammenlignelige resultater for Modernas mRNA COVID-19-vaccine indeholdt i samme publikation er ikke inkluderet nedenfor af hensyn til større klarhed.

Forfatterne til publikationen McKernan et al 2023(1) analyserede batcher af BioNTechs mRNA COVID-19-vacciner, der blev markedsført med hensyn til DNA-urenheder fundet i dem ifølge myndigheder(2) og påviste betydelige mængder dobbeltstrenget DNA (dsDNA), delvist i form af komplette bakterielle plasmider. Plasmider er små ringformede bærere af genetisk information, der er uafhængige af det meget større, ringformede "bakterielle kromosom" og bærer al den information, der kræves til ekspressionen af generne på dem, dvs. dannelsen af genprodukter (proteiner)) på de plasmid-lokaliserede gener. Oprindelsen af disse DNA-kontaminationer kan spores tilbage til produktionsprocessen (3).

Ifølge sekventering er generne fundet på de påviste plasmider især genet for spidsproteinet fra SARS-CoV2-virussen, men også et gen for antibiotikaresistens, hvis funktionalitet blev bekræftet eksperimentelt. Det faktum, at plasmider ikke kun er til stede i BioNTechs mRNA COVID-19-vaccine, men også i Modernas

fundet tyder på, at utilstrækkelig fjernelse af DNA-kontamination i disse vacciner udgør et grundlæggende problem i produktionen af denne produktklasse.

McKernan og kolleger bestemte også den kvantitative sammensætning af nukleinsyrerne (DNA og RNA) indeholdt i vaccinen. Det blev konstateret, at DNA-kontamineringen af BioNTech-vaccinen overskred grænsen fastsat af Det Europæiske Lægemiddelagentur (EMA) med en faktor på 84 til 1445, afhængigt af prøven og metoden.

Med dette in mente er risikoprofilen McKernan og kolleger i mRNA COVID-19
Den massive DNA-kontamination fundet i BioNTechs vaccine skal navngives som følger:

1. Risikoen for ikke-reversibel integration af fremmed DNA fra en mRNA-vaccine i den vaccineredes genom, hvilket er forbundet med risikoen for at ændre humane gener (insertionsmutagenese). Særligt værd at nævne er risikoen for at udvikle kræft.
2. Risikoen for langvarig - muligvis endda livslang - produktion af piggen
   Protein i kroppen af den vaccinerede person.
3. Risikoen for antibiotikaresistens i kroppen hos de vaccinerede.

Risikoen for DNA-kontaminering fundet af McKernan og kolleger i BioNTechs mRNA COVID-19-vaccine kan beskrives som yderst bekymrende ud fra videnskabelige standarder. Det er derfor nødvendigt at stille krav om, at fremstillingsprocessen af den pågældende vaccine bliver fuldstændig nytænket med det formål helt at forhindre forurening af slutproduktet med DNA. Der skal fastsættes nulgrænseværdi for plasmider. Så længe dette ikke opnås, kan det lægges til grund, at der ud over den videnskabelige vurdering også er bekymring i juridisk forstand efter lægemiddellovens § 5. Det betyder, at partier af BioNTechs mRNA COVID-19-vaccine, for hvilke der ikke er eksplicit dokumentation for fravær af DNA-kontamination, hverken må anvendes eller markedsføres.

Machine Translated by Google

II. Indledning

Umiddelbart efter godkendelsen af BioNTechs mRNA COVID-19-vaccine offentliggjorde det europæiske lægemiddelagentur (EMA) en testrapport, der indrømmede tilstedeværelsen af DNA-urenheder i det markedsførte produkt(2). Lineariseret DNA blev nævnt, men ikke cirkulære plasmider. Endvidere blev der ikke foretaget yderligere specifikation, hverken med hensyn til typen eller mængden af disse DNA-kontaminationer. Det blev dog afklaret, at disse DNA-forureninger kommer fra produktionsprocessen. Produktionsprocessen spiller derfor en central rolle i vurderingen af de bagvedliggende fakta her. I denne forstand følger følgende forklaringer kilden (3) til BioNTech-produktet.

For at producere mRNA som en aktiv ingrediens i lægemidler, bruges deres genetiske plan som en DNA-skabelon, hvorfra mRNA'et derefter gentagne gange "transskriberes" enzymatisk og dermed multipliceres. Ifølge de offentliggjorte godkendelsesdokumenter (EMA Assessment Report)(2) blev et vaccinationspræparat brugt til godkendelsesundersøgelser af BioNTechs COVID-19 mRNA-vaccine, hvis DNA-skabeloner blev fremstillet maskinelt i laboratoriet (PCR). Denne metode repræsenterer den nuværende videnskab, og det gælder også for den efterfølgende oprensning af undersøgelsesvaccinens mRNA ved hjælp af såkaldt magnetisk perleteknologi og derfor med en høj standard. Denne fremstillingsrute omtales af EMA som "Proces 1". Imidlertid er begge nævnte teknologier, den mekaniske generering af DNA-skabeloner ved hjælp af PCR og oprensningen ved hjælp af magnetiske perler, dyre.

For at spare omkostninger og dermed øge overskudsgraden blev fremstillingsmetoden for det kommercielt markedsførte produkt fundamentalt forenklet. For at opnå denne omkostningsfordel blev der dog accepteret en øget risiko for alvorlig forurening, da dette er ulempen ved fremstillingsmetoden kaldet "Process 2" af EMA. Dette indebærer dog risikoen for betydelig forurening af forskellige typer, som er væsentligt lavere med "Proces 1"-fremstillingsmetoden, der anvendes til undersøgelsesmedicinen.

Dette bliver tydeligt, når "Proces 1" og "Proces 2" sammenlignes (Figur 1). Magnetiske perler er magnetiserede partikler, der, afhængigt af overfladens design, binder stoffet, der skal opnås fra en prøve, specifikt mRNA, og dermed i det væsentlige fisker det ud. Disse magnetiske perler føjes til prøven, hvor mRNA'et binder til overfladen af perlerne. Ved hjælp af et magnetfelt holdes perlerne med det vedhæftede mRNA derefter på prøvebeholderens væg, mens væsken med de resterende forurenende stoffer i den suges ud. En forureningsfri vandig opløsning tilsættes derefter til prøven, og magnetfeltet slukkes. Dette gør det muligt for perlerne at sprede sig gennem væsken og frigive mRNA i den. Resultatet er et stort set kontamineringsfrit mRNA-præparat.

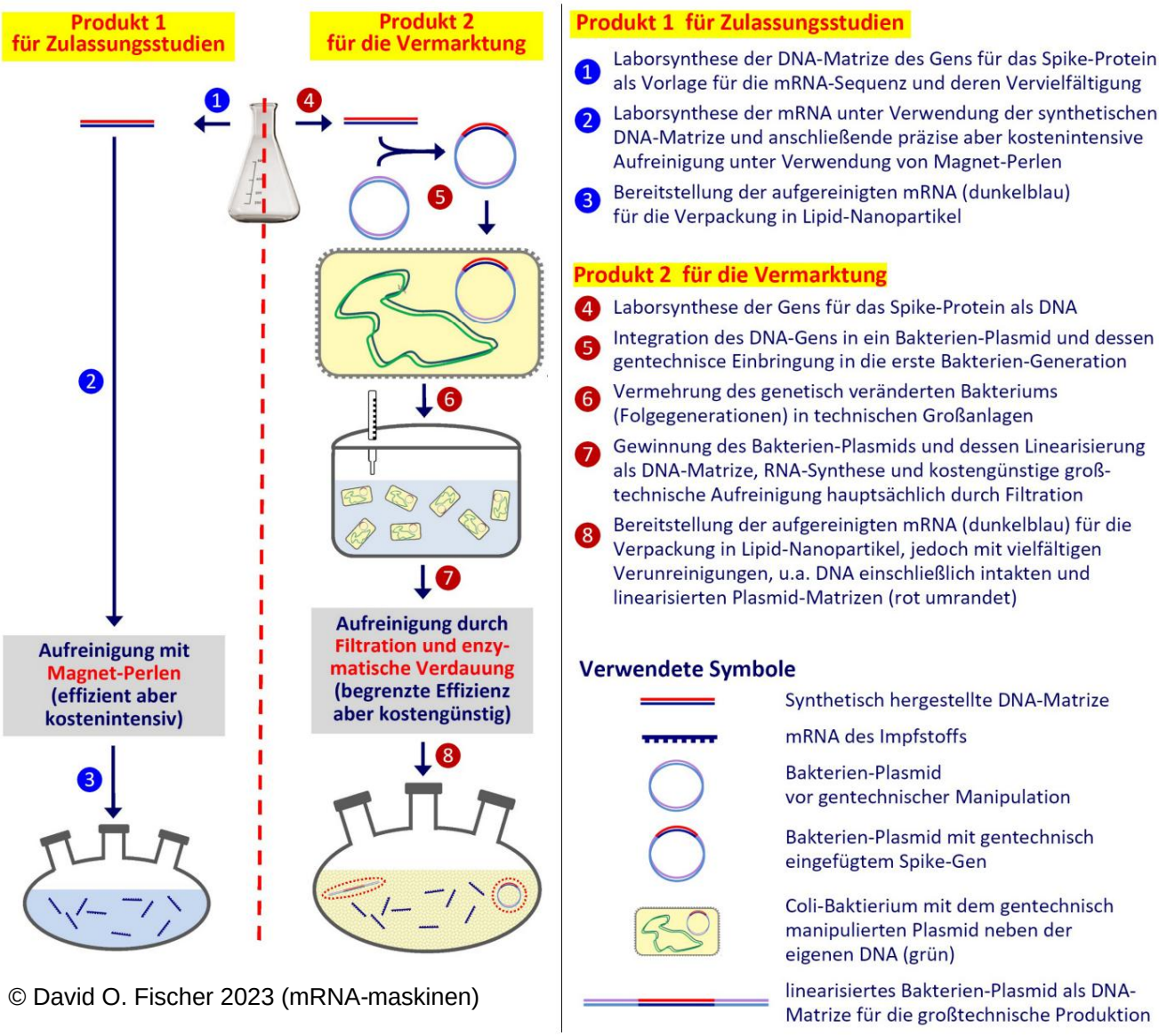
Den meget mere omkostningseffektive produktion ifølge "Proces 2" bruger dog meget billigere filtreringsprocesser. Disse kan dog kun adskille større molekyler fra mindre og med begrænset effektivitet. "Specifikke udfiskning" som brugen af magnetiske perler er ikke muligt på denne måde. Risikoen for kontaminering, der blot opstår ved denne brug af filtreringsmetoder i stedet for magnetisk perleteknologi, øges i "Proces 2" ved at bruge syntetiske DNA-matricer lavet fra PCR-processen i stedet for dem, der produceres i "Proces 1". Plasmider kommer fra genetisk manipulerede coli-bakterier. Plasmider er cirkulære DNA-strenge, der indeholder genet for spidsen

Machine Translated by Google

bærer protein, men også gener, der er nyttige til produktion. Dette omfatter ofte også antibiotikaresistensgener, således at uønskede fremmede bakterier dræbes ved at tilsætte det respektive antibiotikum til dyrkningsopløsningen, men de ønskede bakterier, der indeholder plasmidet med antibiotikaresistensgenet, overlever.

Moderplasmidet, som blev gensplejset i henhold til disse specifikationer, introduceres i en førstegenerationsbakterie og opformeres derefter i en kulturopløsning sammen med de modificerede coli-bakterier. De genetisk modificerede bakterier avlet på denne måde opløses derefter, og de resulterende plasmider, der frigives, koncentreres ved filtrering. Derefter brydes ringformen af plasmiderne, så der skabes en lineær streng. Dette leverer derefter DNA-skabelonen til mRNA-produktion i stor skala. Så meget for teorien.

Figur 1: Produktion af BioNTechs mRNA-vaccine(3)



© David O. Fischer 2023 (mRNA-maskinen)

Machine Translated by Google

Men analyserne fra McKernan og kolleger har nu vist, at det i praksis tilsyneladende ikke er muligt at anvende de partier af mRNA COVID-19-vacciner, der er fremstillet ved hjælp af processen kaldet "Process 2" af EMA fra dobbeltstrenget DNA og i særdeleshed fra dobbeltstrenget DNA for at holde hele plasmider fri.

Formålet med denne kritiske vurdering er nu at nå frem til en videnskabeligt forsvarlig vurdering af risikoprofilen for DNA-kontamineringen fundet i mRNA COVID-19-vaccinerne, baseret på metodologien og resultaterne fra publikationen McKernan et al 2023(1).

III. Metodisk tilgang af McKernan og kolleger og evaluering af de respektive resultater

Isolering af mulig DNA-kontamination af mRNA COVID-19-vaccinerne

Afhængigt af former og mængder af DNA i prøverne, der skal undersøges, udledes forskellige risikoprofiler for mennesker. For at kunne karakterisere DNA-kontaminering af prøverne er det først nødvendigt at fjerne RNA'et, så det ikke forfalsker DNA-bestemmelsen. Dette blev gjort ved hjælp af enzymet RNase A (Monarch RNase A, New England Biolabs), som er kendt for også at producere mRNA (mod-mRNA) af COVID-19-vaccinen modificeret med byggesten, der ikke findes i naturen BioNTech,

at nedbryde. Det dsDNA, der er tilbage efter dette trin, kan forekomme lineært (DNA-streng) eller som et cirkulært plasmid. For at undersøge typen og mængden af resterende DNA blev det først separeret og oprenset fra de resterende komponenter (lipider, muligvis proteiner) ved hjælp af et kommercielt tilgængeligt kit (SenSATIVAx, Medicinal Genomics). Det nu oprensede DNA blev udsat for adskillige testprocedurer for yderligere at karakterisere det.

Test af det isolerede DNA for plasmidegenskaber

Det blev undersøgt, om det oprensede DNA kunne optages af bakterier, og om deres gener kunne udtrykkes, det vil sige, at proteinerne kodet på DNA'et kunne produceres. Til dette formål blev oprenset DNA inkorporeret i E. coli-bakterier (modificeret stamme B21, #C2523I, New England Biolabs) under anvendelse af varmechokmetoden. Det 20 sekunder lange varmechok forårsager korte perforeringer i bakterieskallen, hvilket tillader fremmed DNA at komme ind i bakterierne. Efter en kort genopretning for bakterierne blev de placeret på dyrkningsplader med næringsmedium. Næringsmediet indeholdt antibiotikummet kanamycin, så kun bakterier, der havde optaget et kanamycin-gen i form af fremmed DNA, kunne vokse til kolonier. Da sådanne kolonier dukkede op, må det anses for bevist, at DNA'et isoleret fra vaccinerne bærer genet for kanamycinresistens.

Betydning af resultaterne:

Det DNA, der blev optaget af bakterierne og førte til resistens over for kana mycin, må have været i det mindste delvist til stede som et cirkulært plasmid, som normalt
kun dette, men ikke lineære DNA kan udtrykkes i det givne testsystem. DNA fra et bakteriel kromosom (genomisk DNA) ville være for stort til at komme ind i bakterier ved hjælp af varmechokmetoden.

Machine Translated by Google

Bekræftelse af tilstedeværelsen af plasmider

Bakterier fra kolonierne opnået ifølge metoden beskrevet i det foregående afsnit blev optaget i vand og lyseret. Under denne lysis ødelægges bakteriehylsteret for at få adgang til DNA'et. For at sikre, at de anvendte E. coli-bakterier og fremmede bakterier, der ikke stammer fra forurening, blev udvundet, blev der brugt en positiv kontrol
PathoSEEK E.coli detektionsanalysesættet (#420102, Medicinal Genomics) bruges. Bagefter
DNA'et isoleret fra bakterierne blev undersøgt for genomisk DNA og tilstedeværelsen af plasmid-DNA ved hjælp af en Agilent Tape Station. Agilent Tape Station er en automatiseret
Standardmetode til at bestemme kvaliteten, størrelsen og integriteten af DNA og RNA. Denne testprocedure bekræftede, at det DNA, der blev opnået fra vaccineprøverne og optaget af bakterierne, faktisk er plasmid-DNA.

Betydning af resultaterne:

Plasmider, der bærer et antibiotikaresistensgen, som dem, der er påvist her, omtales i genteknologi som kloningsvektorer. Disse kloningsvektorer bruges til at berige visse gener i bakterier, såsom gener for spidsproteinet i SARS-CoV-2.
Jo flere sådanne plasmider er indeholdt i en bakterie, jo mere effektivt bidrager den til at opnå DNA-skabeloner til mRNA-produktion.

Plasmidsekventering

De isolerede plasmider blev nu sekventeret ved hjælp af "hele genom-haglgeværmetoden".
Ved denne metode nedbrydes plasmidernes DNA til små fragmenter, som derefter indføres i kloningsvektorer. Dette skaber adskillige vektorer, der hver kun indeholder ét DNA-fragment og er tilgængelige for automatiseret sekventering. Resultatet af disse sekvenser er korte nukleotidsekvenser, der svarer til fragmenterne, men som overlapper i enderne. Ved hjælp af speciel software er det muligt at kombinere sekvenser med passende overlap som puslespilsbrikker for at danne en komplet DNA-sekvens (figur 2).

Betydning af resultaterne:

Denne procedure gjorde det muligt at bestemme hele sekvensen af plasmidvektoren afledt af BioNTechs COVID-19 mRNA-vaccine. Genet for kanamycinresistens kan også aflæses i denne sekvens. Dette gen aktiveres via en speciel sekvens, som ofte bruges i genteknologi, den såkaldte SV40-promotor. Hos promotoren satsede de for
Transskriptionen af mRNA'et fra DNA'et kræver enzymer, hvorved promotorens specifikke karakteristika definerer dens regulering, som fundamentalt adskiller sig fra reguleringen af andre promotorer. Det gælder også for promotoren T7, der som forventet styrer aktiveringen af genet for spidsproteinet af SARS-CoV2-virus.

Alene tilstedeværelsen af plasmider i de batches, der frigives til vaccination, er bevis på utilstrækkelig oprensning af mRNA'et, før det pakkes ind i lipid-nanopartikler
(LNP'er). Da selv en let forurening af vacciner med DNA udgør betydelige risici for de vaccinerede, må denne omstændighed klassificeres som yderst bekymrende.

I sidste ende, i produktionen af lipid nanopartikler (LNP'er) til klar-til-brug mRNA
Vaccine kan ikke kontrolleres, hvad enten det er mRNA eller DNA eller begge i forskellige proportioner

Machine Translated by Google

lipidskallen af LNP'erne er pakket. Humane celler adskiller sig heller ikke i denne henseende. LNP'er indeholdende DNA absorberes af de vaccineredes celler på samme måde som LNP'er, der kun indeholder mRNA. Indholdet af LNP'erne bestemmer ikke specificiteten og mængden af optagelse af cellerne i den menneskelige modtager. Efter vaccinationen kommer DNA-forureningen også ind i cellerne hos den vaccinerede.

Generne på plasmiderne koder for proteiner, der også kan udføre uønskede funktioner i humane celler. McKernan og kolleger fundet på mRNA COVID-19
Plasmidet fundet i BioNTech-vaccinen har en SV40-promotor, som aktiverer genet for kanamycinresistens. SV40-promotoren kommer oprindeligt fra Semian-virus 40 og er konstitutivt aktiv i eukaryote celler, som omfatter alle dyre- og menneskeceller. Det betyder, at genet, der ligger bag en SV40-promotor - her kanamycinresistensgenet - etablerer resistens over for antibiotikummet kanamycin i den menneskelige celle, men også krydsresistens over for andre antibiotika af samme gruppe af aminoglykosider fx gentamycin, neomycin, streptomycin og dibekacin .

En såkaldt f1 ori-sekvens kan også findes på plasmidet. Denne sekvens er nødvendig for at replikere plasmid-DNA'et i bakteriecellen. Imidlertid kan f1 ori-sekvensen også fungere som udgangspunkt for replikation af plasmid-DNA'et i humane celler, hvis et gen for proteinet kaldet "stort T-antigen" eller en homolog, der stammer fra et polyomavirus, også er til stede i den berørte celle. Infektionsraten hos mennesker med polyomavirus er op til 90 %. Det betyder igen, at en stor del af mennesker har vedvarende polyomavira, som igen har genet for et "stort T-antigen"-protein (eller en homolog).

Så hvis et plasmid fra vaccinen med vaccinenanopartiklerne indføres i en human celle, som igen er inficeret med en persistent polyomavirus, vil det resultere i, at plasmidet formerer sig i den berørte humane celle og dermed på en ukontrolleret måde og sandsynligvis også føre til til langvarig ekspression af spike-genet. Kontamineringen af plasmid-DNA fra fremstillingsprocessen af mRNA'et til vaccineproduktion kan være en mulig forklaring på den langvarige ekspression af vaccinespidsproteinet (5).

Bestemmelse af plasmididentitet

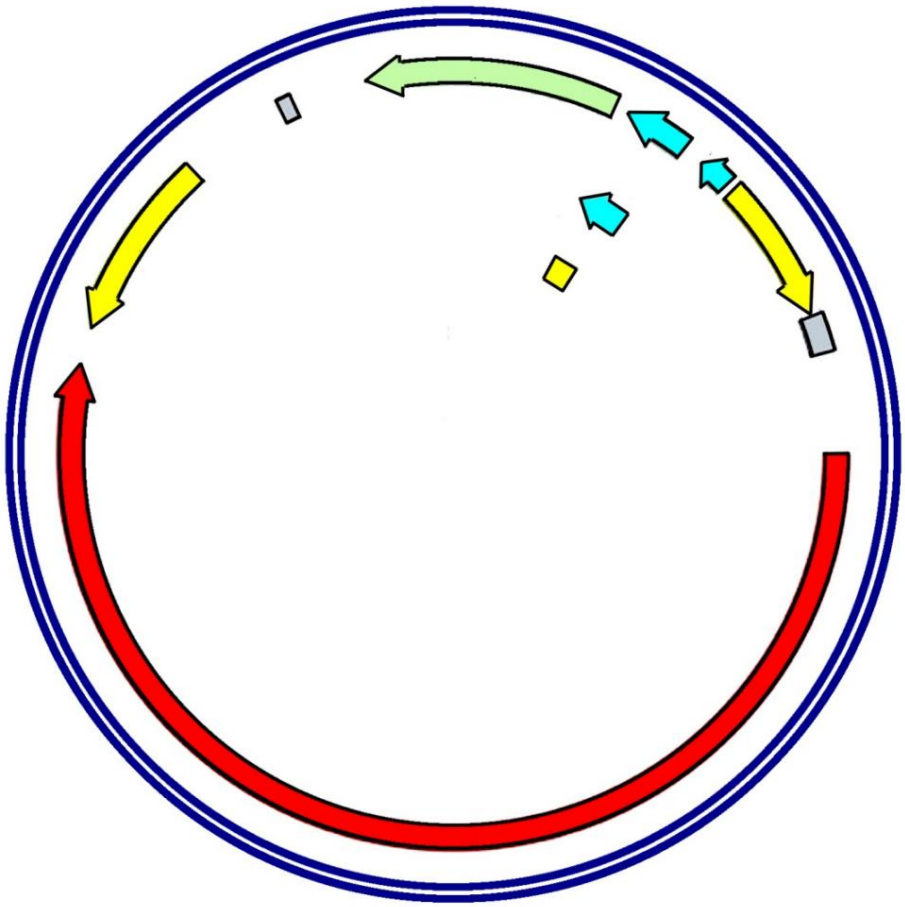
I princippet er det muligt, at mere end én plasmidvariant er skjult i en prøve. Kvantitativ PCR-analyse (qPCR) gør det muligt at undersøge dette. Til dette formål valgte McKernan og kolleger to definerede regioner af det sekventerede plasmid - regionen af genet for spikeproteinet og også regionen af genet for kanamycinresistens. Under qPCR blev begge områder kvantificeret separat Resultatet blev et forhold på 1:1, således at det med en vis grad af sandsynlighed kan antages, at der kun var én plasmidvariant i prøverne.

Betydning af resultaterne:

Værdierne bestemt under qPCR indikerer, at de undersøgte prøver er kontamineret med en plasmidvektor i en uventet høj mængde.

Machine Translated by Google

Figur 2: Sekvens af et plasmid identificeret af McKernan og kolleger i mRNA
Der blev fundet COVID-19-vaccine fra BioNTech (modificeret i henhold til figur 2(1))



Gen for spidsproteinet af SARS-CoV2-virus

Kanmycinresistensgen

Regulatoriske sekvenser, der sikrer funktionalitet af plasmidet

Machine Translated by Google

Kvantitativ bestemmelse af nukleinsyreindholdet

Til BioNTechs mRNA COVID-19-vaccine brugte McKernan og kolleger DNA og RNA-indhold bestemt ved hjælp af to standardmetoder, Agilent Tape Station™ elektroforese og Qubit™ 3 fluorometri:

BioNTech **Agilent** Figure 6[1]	DNA ng/µl	DNA ng/Dosis	RNA ng/µl	RNA ng/Dosis	Nuklein-säuren ng/Dosis	Nuklein-säuren % DNA	DNA /RNA	ngDNA /1mg RNA	Vielfaches des Grenz-werts von 330 ng DNA pro 1 mg RNA*
Probe 1	11,30	3390	23,70	7110	10500	32,29	0,48	476793	1445
Probe 2	8,19	2457	28,30	8490	10947	22,44	0,29	289399	877

BioNTech **Qubit** Table 1[1]	DNA ng/µl	DNA ng/Dosis	RNA ng/µl	RNA ng/Dosis	Nuklein-säuren ng/Dosis	Nuklein-säuren % DNA	DNA /RNA	ngDNA /1mg RNA	Vielfaches des Grenz-werts von 330 ng DNA pro 1 mg RNA*
Probe 3	2,81	843	30,00	9000	9843	8,56	0,09	93667	284
Probe 4	1,47	441	52,80	15840	16281	2,71	0,03	27841	84

* Grenzwert der EU Arzneimittelagentur EMA:	330	ng DNA pro mg RNA [4]
	10	ng DNA pro 30 µg RNA (1 Dosis)

Afhængigt af prøven og metoden resulterede dette i 84 til 1445 gange mængden af DNA-kontamination BioNTechs mRNA COVID-19-vaccine fandtes at være ved en acceptabel grænse for EU.

Betydning af resultaterne:

Forfatterne McKernan et al 2023 begrænser selv, at deres resultater er af foreløbig karakter. Så kun prøver, der allerede var udløbet, blev brugt. Det kan derfor forventes, at McKernan vil præsentere mere valide resultater inden for en overskuelig fremtid.

På trods af disse begrænsninger er de analyser, McKernan og kolleger har udført til dato, yderst alarmerende. DNA-kontamineringen fundet i BioNTech-vaccinen med grundlæggende funktionelt DNA overskrider den grænse, som EMA har sat mange gange. Dette DNA-indhold fremgår dog ikke af brugsanvisningen eller i specialistinformationen, da indholdsstoffer i et lægemiddel, der er deklareret som urenheder, ikke kan identificeres. I den forbindelse må der dog stilles spørgsmålstegn ved, om der reelt er tale om forurening med DNA, eller om DNA'et også bidrager til den farmakologiske effekt af denne vaccine, fordi det er bæreren af spikeproteingenet, der kan aktiveres. Dette DNA er derfor grundlæggende velegnet til at tvinge celler hos den vaccinerede person til at producere spikeproteinet - udover spikeproteinet, der dannes på basis af det indførte mRNA. Ifølge de tilgængelige resultater kan dette i det mindste antages for vaccinationsproduktet, som er fremstillet ved hjælp af processen kaldet "Proces 2" af EMA, det vil sige den kommercielt markedsførte vaccine. Men det betyder igen, at vaccinens DNA-komponenter, som i dag omtales som urenheder, skal identificeres som en yderligere aktiv ingrediens.

Machine Translated by Google

IV. Vurdering af risikoprofilen for DNA-kontaminering af BioNTechs mRNA COVID-19-vaccine

Kontaminering med plasmider - et permanent kvalitetsproblem i "Proces 2"

Ifølge EMA's vurderingsrapport(2) anvendes plasmiderne opnået fra coli-bakterier til produktion af BioNTechs mRNA COVID-19-vaccine i henhold til "Process 2" før mRNA-produktion lineariseret. Dette er et trin, der er nødvendigt for transkription og derfor for produktionen af mRNA'et. Tilstedeværelsen af hele plasmider i det endelige produkt demonstreret af McKernan og kolleger viser imidlertid, at lineariseringen regelmæssigt er meget ufuldstændig. Det er derfor usandsynligt, at dette ikke blev bemærket under kvalitetskontroller i produktionsprocessen.

Hvis ufuldstændigheden af lineariseringen af plasmiderne accepteres af BioNTech, men også af overvågningsmyndighederne, tyder det på, at der er et grundlæggende problem i produktionen, som åbenbart ikke kunne løses. Hvor fundamental kontamineringen af mRNA-vacciner med plasmider er, fremgår tydeligt af, at dette problem ikke kun gælder mRNA-vaccinerne markedsført af BioNTech, men også dem fra Moderna(1).

Der blev tilsyneladende ikke draget nogen konklusioner af dette, og i stedet kapitulerede de over for dette problem. Det må derfor antages, at produktionen af mRNA-vacciner efter "Proces 2" til storskalaproduktion kun kan udføres utilstrækkeligt med en høj, farlig forureningsgrad i forhold til tilvejebringelsen af DNA-matricerne. Dette sætter igen spørgsmålstegn ved, om kravene i "Good Manufacturing Practice" (GMP) vedrørende "Proces 2" overhovedet bliver opfyldt.

Næste trin efter afslutningen af transkriptionsprocessen, dvs. dannelsen af mRNA, er nedbrydningen af de lineariserede DNA-plasmider, som ikke længere er nødvendige, til nukleotider ved hjælp af enzymer (DNaser) for at forhindre kontaminering af slutproduktet med DNA kl. dette punkt i produktionsprocessen for at eliminere "Proces 2". Nedbrydningsprodukterne, dvs. de nu isolerede nukleotider af DNA'et, bør adskilles fra under den efterfølgende filtrering. Den meget høje forurening af frigivne vaccinebatcher med DNA viser dog, at DNA-fordøjelsestrinnet i "Proces 2" også udføres yderst utilstrækkeligt. Efter den utilstrækkelige linearisering af plasmider med den utilstrækkelige fordøjelse af DNA af DNaser, er der et andet alvorligt produktionsproblem, der alvorligt sætter spørgsmålstegn ved slutproduktets sikkerhed.

I sin første offentliggjorte vurderingsrapport(2) kritiserede EMA den utilstrækkelige kvalitetskontrol af den enzymatiske fordøjelse af DNA-kontamination, men satte spørgsmålstegn ved det forstod ikke de mulige konsekvenser for produktsikkerheden og gav åbenbart ingen afhjælpning. Sidstnævnte kunne også være en indikation af, at "Proces 2" er uegnet til masseproduktion, og at EMA i det stille accepterede den resulterende DNA-kontamination for at muliggøre tilgængeligheden af det endelige produkt - også selvom dette giver anledning til bekymring for produktets sikkerhed. Det kan dog også være tilfældet, at produktionen af mRNA-vacciner baseret på bakterieplasmider i henhold til "Proces 2" generelt er uegnet til opskalering, dvs. produktion i stor skala.

Machine Translated by Google

Risikoen for insertionsmutagenese

Det er kendt, at mRNA-vaccinernes lipid-nanopartikler og dermed også den DNA-forurening, der er indeholdt i dem, stort set kan trænge ind i alle menneskelige celler, således at integrationen af viruset beskrevet af McKernan og kolleger i mRNA COVID-19 foregår der plasmidet. DNA fundet i vaccinen kan ikke udelukkes fra starten.
Desuden har det været kendt i årtier, at introduktionen af fremmed DNA i menneskelige celler giver organismen den grundlæggende mulighed for at omdanne dette fremmede DNA til stabilt og irreversibelt at inkorporere det menneskelige genom Da dette i sidste ende altid er en mutation af det menneskelige gen noms, omtales denne proces med indsættelse af fremmed DNA som insertionsmutagenese (6) .

Processen med insertionsmutagenese og de tilhørende mutationer er genstand for intensiv forskning. De genotoksiske stoffer som følge af insertionsmutagenese er
Virkninger af fremmed DNA er generelt opdelt i tre grupper:

a) Geninaktivering: Indsættelsen af DNA i værtsgenomet kan foregå inde i et gen, således at genets funktion forhindres. Dette kan føre til tab af essentielle proteiner i cellen og dermed potentielt føre til udvikling af en række sygdomme, bl.a.
føre til kræft(6) .

b) Genaktivering: Visse regulatoriske og andre genomiske sekvenser kan aktiveres. Dette kan øge syntesen af visse proteiner i cellen, hvilket også udgør en kræftrisiko (6) . Da de nyskabte cancerceller kan modnes til klinisk manifeste tumorer, er denne type integration nu blevet en almindelig teknik inden for tumorbiologi (7).

c) Genregulering: Transkriptionelle og epigenetiske reguleringsmekanismer kan påvirkes, hvilket forårsager, at proteinekspression bliver dysreguleret med uforudsigelige og uønskede resultater(6) .

Forekomsten af maligne sygdomme på grund af DNA-integration og den resulterende onkogenaktivering blev allerede påvist i 2000 i et klinisk studie med en retroviral vektor
Behandling af børn med SCID-X1 (svær kombineret immundefekt) bevist(8)(9) .
På det tidspunkt fandt man ud af, at tre år efter behandlingen udviklede 2 ud af 10 børn, der blev behandlet på denne måde, leukæmi. Årsagen var integrationen af DNA i nærheden af en
Kræftgen identificeret. Derfor advarede forfatterne af denne undersøgelse allerede dengang at en observationsperiode på 6 måneder efter behandling med DNA-aktive ingredienser ikke er tilstrækkelig til at opdage langtidsbivirkninger af denne type.

Dette gør det klart, hvor væsentlige grundige og langsigtede undersøgelser af mulige genotoksiske effekter er, herunder for det fremmede DNA, der kan være forbundet med mRNA'et COVID-19
BioNTechs vaccine introduceres i den menneskelige organisme. Men disse mangler indtil videre, (2) med udtrykkelig godkendelse fra EMA og EU-Kommissionen. Men den massive DNA-forurening, som McKernan og kolleger nu har fundet, gør dette problem mere akut hos de lokale tilsynsmyndigheder, som er ansvarlige for at føre tilsyn med produktionsfaciliteterne, hvorfra DNA-forureningen kommer. De skal nu straks kontrollere, om den fabrikationslicens, der kræves for hver lokation, kan opretholdes.

Machine Translated by Google

Risikoen for langvarig ekspression af spidsproteinet

T7-promotoren, som er placeret foran genet for spidsproteinet på plasmidet fundet af McKernan og kolleger i BioNTechs mRNA COVID-19-vaccine, spiller en væsentlig rolle i aktiveringen af dette gen. Men da T7-promotoren ikke er videnskabeligt endelig
riseret, kan det ikke udelukkes, at spidsproteinet, afhængig af de specifikke omstændigheder, aflæses fra plasmid-DNA'et i en ubestemt mængde og syntetiseres af den menneskelige celle. Dette kan muligvis være en forklaring på den langvarige sporbarhed af spidsprotein i kroppen, som allerede er fundet flere gange hos vaccinerede.

Risikoen for at integrere intramuskulært administreret plasmid-DNA i genomisk DNA blev første gang påvist i en musemodel i 2004 (10). Det har siden vist sig, at integrationen af plasmid-DNA i værtsgenomet bliver mulig, når værtscellen gennemgår celledeling
indgang. I denne forstand er deleceller for mennesker især stammen
celler og progenitorceller fra alle organer. Især hudceller, celler i mave-tarmkanalen, blodceller og knoglemarvsceller gennemgår konstant og hurtig celledeling. Hver celledeling involverer opløsning af cellekernen og dermed eksponering af cellens kromosomale (genomiske) DNA, således at plasmid-DNA kan komme i tæt kontakt med det menneskelige kromosomale DNA og integreres i genomet ved passende menneskelige cellemekanismer.

Samlet set er mekanismen for indsættelse af fremmed DNA i pattedyrceller endnu ikke tilstrækkeligt forstået på molekylært niveau. Derfor er der stadig et stort behov for forskning i denne henseende. Især spørgsmålet om persistensen af plasmider, der er trængt ind i en divisionskompetent human celle, er også vigtigt i denne sammenhæng. Jo længere disse varer, desto højere er risikoen for insertionsmutagenese, dvs. risikoen for, at plasmiderne, der bærer genet for spikeproteinet, bliver integreret i den vaccinerede persons genomiske DNA, og derfra vil en ukontrolleret produktion af spikeprotein finde sted.

Selvom risikoen for at integrere plasmid-DNA i humant eller animalsk genomisk DNA
Selvom dette har været kendt i årtier, er der stadig ikke tilstrækkelige data om hyppigheden af denne hændelse eller nøglefaktorerne i denne henseende. Så længe dette forbliver tilfældet, kan en vurdering af denne risiko i det mindste foretages på baggrund af indsamlede data om integrationshyppigheden af adenovirus-DNA. I denne forstand fandt en undersøgelse udført på mus i 2022 en integrationsfrekvens på op til 0,005 pr. celle (leverceller, som adenoviruset var trængt ind i). Det betyder, at i én ud af 200 celler inficeret med adenovirus, blev virus-DNA'et integreret i det genomiske DNA, og der opstod således insertionsmutagenese (11).

Denne værdi er mere end alarmerende, hvis den antages at være tænkelig i mangel af mere specifikke data for et lægemiddel på markedet, såsom BioNTechs mRNA COVID-19-vaccine
skal blive. Men det er præcis tilfældet i betragtning af de data, McKernan og kolleger har præsenteret om forurening af denne vaccine med DNA. Der skal dog fremlægges dokumentation for sikkerheden for ethvert lægemiddel på markedet, ellers er markedsføring af det, samt behandling med det, strafbart efter lægemiddelloven (§ 5 AMG sammenholdt med § 95 AMG).

Machine Translated by Google

I denne sammenhæng er det vigtigt, at de nuværende FDA-anbefalinger anføre, at for lægemidler, der kan integreres i genomet, kræves et langtidsobservationsstudie (LTFU) på op til 15 år(12) . Det er nødvendigt at inkludere undersøgelse af nyopståede maligne sygdomme, hæmatologiske lidelser, forekomst eller forværring af neurologiske lidelser, autoimmune sygdomme eller potentielt produktrelaterede infektioner.

Til dato er disse state-of-the-art videnskabelige retningslinjer ikke blevet implementeret med hensyn til mRNA-vacciner - tilsyneladende i uvidenhed om den massive forurening af disse lægemidler med DNA og især i form af plasmider. Men nu hvor McKernan og kolleger har demonstreret og offentliggjort den massive DNA-kontamination af disse vacciner, er der et presserende behov for at genoverveje dette. I denne forstand skal mRNA-vacciner straks være underlagt de samme strenge standarder, som gælder for andre lægemidler, der indeholder nukleinsyrer, der potentielt kan integreres i det menneskelige genom.

Risikoen for antibiotikaresistens i kroppen hos de vaccinerede

McKernan og kolleger identificerede ikke kun et gen for spidsproteinet på plasmidet fundet i BioNTechs mRNA COVID-19-vaccine, men også et gen for kanamycinresistens (1). Dette gen kan dog også etablere resistens over for antibiotikummet kanamycin i humane celler, såvel som krydsresistens over for andre antibiotika af aminoglycosidgruppen, såsom gentamycin, neomycin, streptomycin og dibekacin.

En sådan cellulær multiresistens over for aminoglykosider kan spredes til skadelige bakterier, der har invaderet kroppen gennem horisontale genudvekslingsprocesser, hvilket igen kan gøre bekæmpelsen af dem betydeligt vanskeligere. En sådan menneskekrops egen resistens over for antibiotika udgør derfor også en alvorlig risiko, som ifølge den nuværende viden kan have uoverskuelige konsekvenser.

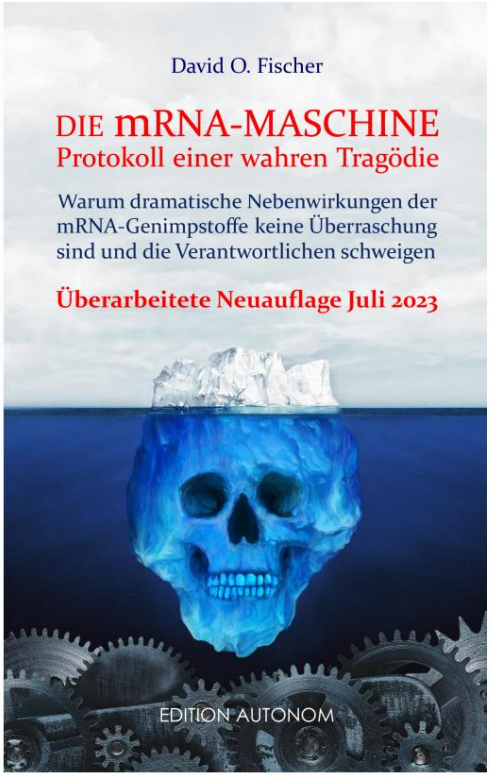
Machine Translated by Google

V. Kildeliste

(1) McKernan, Kevin et al. 2023:
Sekventering af bivalente Moderna- og Pfizer-mRNA-vacciner afslører nanogram til mikrogram mængder af ekspressionsvektor dsDNA pr. dosis
10. april 2023, OSF Preprints, doi:10.31219/osf.io/b9t7m

(2) EMA 2021:
Vurderingsrapport COVID-19 mRNA-vaccine (nukleosid-modificeret)
Procedure nr. EMEA/H/C/005735/0000, EMA/707383/2020 Corr.1*1, 19. februar 2021
https://www.ema.europa.eu/en/documents/assessment-report/comirnaty-epar-public assessment-report_en.pdf

(3) David O. Fischer 2023:
mRNA-maskinen - registrering af en sand tragedie
Bogudgivelse, revideret ny udgave juli 2023, ISBN 9 783752 692426



David O. Fischer er pseudonymet for en insider i den farmaceutiske industri, der som kvalificeret biolog var involveret i udviklingen af nye lægemidler. Fra dette perspektiv rapporterer han om forbindelser mellem videnskab, politik og handel.

www.genimpfstoffe.de

mRNA MASKINEN Indholdsfortegnelse

Pludselig en fremmed:
Karakterændringer efter mRNA-vaccination 15
Et produkt fra investeringsbanker:
Drømmen om at helbrede mange kræftpatienter gennem mRNA-medieret immunisering..... 35
mRNA-vacciner i den vaccinerede persons krop 45
Bivirkninger: Et spørgsmål om definitioner? 55
Manglen på undersøgelser af mulige bivirkninger af BioNTechs mRNA-vaccine..... 79
På grund af besparelser i produktionsprocessen er BioNTechs mRNA-vaccine stærkt forurenet og ikke identisk med vaccinen i godkendelsesundersøgelserne ... 97
DNA-urenhederne i BioNTechs mRNA-vaccine og deres risici 107
Den ødelæggende dynamik af inflammatoriske reaktioner efter mRNA-vaccination 119
Hjerteanfald 2.0 og forbuddet mod tvivlsomme stoffer 141
Traumer ved betændelse i små blodkar 153
Den mulige indflydelse af mRNA-vaccination på epigenetik 165
Autoimmune reaktioner som risici for COVID-19-vacciner 179
Et politisk tænkt bedrag af folket i Tyskland: Corona-rapporten fra den tyske forbundsregering fra marts 2020 189
Den alvorlige afsporing af de ansvarlige institutioners kommunikation 201
Gag-aftalen 225
Men hvad kan vi gøre? 233
Epilog: Gå hundrede meter og gå altid ligeud! (et eksempel) 237
Liste over kilder..... 251

Machine Translated by Google

(4) EMA 2020:
Rapportør Rolling Review kritisk vurderingsrapport
Kvalitetsaspekter COVID-19 mRNA Vaccine BioNTech
EMEA/H/C/005735/RR/xxx (19. november 2020)
https://mega.nz/file/tQgzBYIS#KZLmkCVKJljv2IotP8hnQNXPhEj-sZYos2mSv8o7fYE

(5) Castruita, JAS et al. 2023:
SARS-CoV-2 spike mRNA-vaccinesekvenser cirkulerer i blodet op til 28 dage efter COVID-19-vaccination.

INKLUDERER; 2023; 131: 128-132; https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/apm.13294

(6) EMA 2013:
Refleksionspapir om håndtering af kliniske risici, der stammer fra insertionsmutagenese
EMA/CAT/190186/2012 (19. april 2013)
https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/reflection-paper management-clinical-risks-deriving-insertional-mutagenese_en.pdf

(7) Bushman, FD 2020:
Retroviral insertionsmutagenese hos mennesker: bevis for fire genetiske mekanismer, der fremmer udvidelse af celleklon
Mol. Ther., 28 (2020), s. 352-356; https://
breast-cancer-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/bcr1376

(8) Cavazzana-Calvo, M et al. 2000:
Genterapi af human svær kombineret immundefekt (SCID)-X1-diease
Videnskab. 2000;288:669-672.

(9) Hacein-Bey-Abina, S et al. 2003:
LMO2-associeret klonal T-celleproliferation hos to patienter efter genterapi for SCID-X1
Science 302: 415-419,

(10) Wang, Z. et al. 2004:
Påvisning af integration af plasmid-DNA i værtsgenomisk DNA efter intramuskulær injektion og elektroporation
Gene Ther. 11(8):711-21; doi: 10.1038/sj.gt.3302213

(11) Wang, Z. et al. 2022:
Karakterisering af integrationsfrekvens og indsættelsessteder af adenovirus DNA i muselever genomisk DNA efter intravenøs injektion
Gene Ther; 29(6):322-332; doi: 10.1038/s41434-021-00278-2

(12) US Food and Drug Administration 2020:
Langtidsopfølgning efter administration af humane genterapiprodukter
https://www.fda.gov/media/113768/download

Machine Translated by Google

Vedhæftet fil

Sekventering af bivalente Moderna- og Pfizer-mRNA-vacciner afslører nanogram til mikrogram mængder af ekspressionsvektor dsDNA pr. dosis

Udgivelsesdato: 10. april 2023

Forfattere: McKernan, Kevin; Helbert, Yvonne; Kane, Liam T. og McLaughlin, Stephen
Medicinal Genomics, 100 Cummings Center, Suite 406-L, Beverly Mass, 01915, USA

Kilde: OSF Preprints, doi:10.31219/osf.io/b9t7m

Af ophavsretlige årsager er denne artikel ikke inkluderet her.
Alternativt henvises til tilgængeligheden på internettet:

https://osf.io/b9t7m/